

Új kvantitatív biomarkerek a májbetegségek diagnosztikájában

MTA DOKTORA ÉRTEKEZÉS TÉZISEI

Dr. Kaposi Novák Pál

Semmelweis Egyetem, Orvosi Képző Klinika



Budapest

2026

1. Rövidítések jegyzéke

2D	kétdimenziós
3D	háromdimenziós
AC	hanggyengítési együttható
AI-HRI	mesterséges intelligencia támogatott hepatorenális fényességi index mérés
APHE	artériás fázisban fokozott kontraszthalmozás
AUC	ROC görbe alatti terület
BSC-D	visszaszóródási-intenzitáseloszlási együttható
CDI	színes Doppler képalkotás
cDNS	komplementer dezoxiribonukleinsav
CEUS	kontrasztanyag ultrahang
CI	95%-os konfidenciaintervallum
CLD	krónikus májbetegség
CNN	konvolúciós neurális hálózat
CS-MRI	kémiai eltolódáson alapuló mágneses magrezonancia képalkotás
CSN5	COP9 szignáloszóma alegység-5
CT	számítógépes rétegvizsgálat
CTP	Child- Turcotte-Pugh pontszám
DAA	direkt hatású antivirális szer
DN	diszplasztikus göb
EOT	antivirális kezelést befejezését követő
FDR	hamis felfedezési arány
FIB-4	fibrózis-4 index
FLL	gócós májelváltozás
FNH	fokális noduláris hiperplázia
GC	komplex gráfvágó
GSEA	génkésletdúsulás-elemzés
HBP	hepatobiliáris fázis
HBV	hepatitis B vírus
HCA	hepatocelluláris adenóma
HCC	hepatocelluláris karcinóma
HCV	hepatitis C vírus
HGF	hepatocita növekedési faktor
HRI	hepatorenális fényességi index
ICC	csoporton belüli korrelációs együttható
IQR	interkvartilis tartomány
KO	génkiütött
kPa	kilopascal
LSM	májmerevségmérés
MAFLD	metabolikus diszfunkcióval összefüggő zsírmájbetegség
MAG	magnitúdó kép rekonstrukció
MAG-R	magnitúdó alapú zsírfrakció és R2* becslés Rice-eloszlású zajmodellezéssel
MASLD	metabolikus diszfunkció-asszociált szteatotikus májbetegség
MET/Met	mezenchimális-epitélialis tranzíciós faktor
MI	mesterséges intelligencia
mRNS	hírvivő ribonukleinsav
MRI	mágneses magrezonancia képalkotás

MRI-PDF	mágneses magrezonancia zsírfrakció
MYC/Myc	madár myelocitomatózis vírus onkogén celluláris homológia
MVFI	mikrovaszkuláris Doppler áramlási képalkotás
MVI	mikroérinvázió
NAFLD	nem alkoholos zsírmájbetegség
NASH	nem alkoholos szteatohepatitis
NPV	negatív prediktív érték
OR	esélyhányados
PACS	képarchiváló és továbbító rendszer
PCR	polimeráz-láncreakció
PPV	pozitív prediktív érték
pSWE	egy pontban mért nyíróhullám elasztográfia
PVP	portális vénás fázis
QIBA	Kvantitatív Képalkotó Biomarker Szövetség
QPBO	komplex kvadratikus pszeudo-boole-i optimalizáció és gráfvágó
QUS	kvantitatív ultrahang
r	Pearson korrelációs együttható
R ²	determinációs együttható
R2*	T2* relaxivitás
RFC	random erdő osztályozó
RMI	megbízhatósági index
ROC	vevő működési karakterisztika
ROI	mérési ablak
siRNS	kis interferáló RNS
SVR	tartós vírusmentesség
SVM	szupport vektor gép
SWE	nyíróhullám elasztográfia
T2DM	2-es típusú cukorbetegség
UEFF	ultrahanggal becsült zsírfrakció
UH	ultrahang
US-FLI	ultrahangos zsírmáj index
VCTE	rezgéskezelésű tranziens elasztográfia
VNT	kezelést igénylő varixok
WHO	Egészségügyi Világszervezet
WT	vad típusú
κ	Cohen-féle kappa
χ^2	Khi-négyzet próba

2. Bevezetés

Napjainkban, az orvostudományban egyre nagyobb számban jelennek meg objektív vizsgálati módszerek segítségével meghatározható biomarkerek, melyek nélkülözhetetlenek a betegségek gyors és megbízható diagnosztikájához, a terápiás döntések meghozatalához és a kezelések eredményességének nyomon követéséhez. Ezek a pontosan megmérhető és jól reprodukálható biológiai jellemzők az evidenciákon alapuló orvoslás egyik fontos alappilléreiként képzik. Az Egészségügyi Világszervezet (WHO) úgy határozta meg a biomarker fogalmát, mint „bármilyen anyag, struktúra vagy folyamat, amely a szervezetben önmagában vagy termékeiben mérhető és befolyásolja, vagy előre jelzi a betegségek kimenetelét vagy előfordulását”. A biomarkerek klinikumban történő alkalmazhatóságának vizsgálata során tisztázni kell azok relevanciáját, illetve hasznosságát a betegellátás és a klinikai betegvizsgálatok szempontjából. Az orvosi képalkotó módszerekkel gyűjtött képi biomarkerek növekvő jelentőségét jelzi, hogy megalakult a Kvantitatív Képalkotó Biomarker Szövetség (QIBA), melyek legfontosabb célja a képi biomarkerek ellenőrzése, illetve a vizsgálati és mérési protokollok egységesítése. Az értekezés célja, hogy a máj gócos és diffúz elváltozásainak diagnosztikájában használható új szöveti és képi biomarkerekkel végzett vizsgálatok eredményeit ismertesse.

2.1. A májfibrózis nem invazív kimutatása képalkotó vizsgálatokkal

A krónikus májbetegség (CLD) világszerte jelentős egészségügyi kihívást jelent. 2019-ben a WHO adatai alapján a globális halálozások 2,4%-nak hátterében állt CLD, ami ezzel a tizenegyedik leggyakoribb halálozási ok. A 2019-es adatok alapján, Magyarországon a CLD okozta mortalitás a negyedik legmagasabb volt Európában. A krónikus hepatitis B vírus (HBV) és hepatitis C vírus (HCV) fertőzés napjainkban a CLD egyik leggyakoribb oka. A HCV fertőzöttek 75–85%-ban krónikus májgyulladás alakul ki. Magyarországon 50000-re becsülhető a fertőzőképes HCV vírushordozók száma. A direkt hatású antivirális szerek (DAA) megjelenése következtében a tartós vírusmentességet (SVR) elérők aránya elérte a 95%-ot. Az antivirális terápiára adott válasz csökkenti a cirrózis és a hepatocelluláris karcinóma (HCC) okozta halálozást.

A fibrózis stádiumának meghatározása elsőrendű fontosságú a betegek kezelése szempontjából. A májfibrózis kimutatásának és a stádium meghatározásának sokáig egyetlen módszere a biopsziás mintavétel volt. A szövettani mintákban a METAVIR skála öt stádiumot különböztet meg: F0-tól F4-ig. A biopszia hátránya, hogy a májtérfogat csak nagyon kis részét reprezentálja, és nem elhanyagolható szövődmények kockázata, ezért nem alkalmas nagyobb betegpopulációk szűrésére és nyomon követésére. Napjainkban, a nemzetközi szakmai irányelvek a nem invazív módszereket javasolják a fibrózis elsődleges diagnosztikájára. A képalkotó vizsgálatok szerepe egyre növekszik a fibrózis kimutatásában is. A legelterjedtebb nem invazív diagnosztikus módszer az elasztográfiás mérés. A májmerevségmérés (LSM) a májszövet rugalmas összenyomhatóságát jellemezi, mértékegysége a kilopascal (kPa). Az LSM alapja, hogy mechanikai impulzusok hatására a szövetekben a deformációs erő irányára merőleges nyíróhullámok keletkeznek, melyek terjedési sebessége a szöveti keménységgel arányosan változik. Számos vizsgálat igazolta, hogy az LSM jól korrelál a fibrózis szövettani stádiumával. Az LSM-hez használhatunk ultrahang (UH) hullámokat, mint a rezgéskontrollált transziens elasztográfia (VCTE) és nyíróhullám elasztográfia (SWE) esetében, vagy a mágneses magrezonancia képalkotást (MRI). Az SWE előnye, hogy az UH során végezhető, nem igényel külön eszközt vagy a beteg speciális előkészítését. A radiomikai elemzés szintén új módszert teremthet a májfibrózis diagnosztikájára. A számítógépes rétegvizsgálat (CT) vagy MRI

képeken többféle pixel denzitás eloszlási, vagy másképpen radiomikai, paramétert számíthatunk ki. Ezek a paraméterek olyan kismértékű architektúrális különbségeket tesznek mérhetővé, amelyeket a vizsgáló orvos szabad szemmel nem tud elkülöníteni. Kutatások alapján, a több paramétert együttesen értékelő gépi tanulási modellek képesek lehetnek a fibrózis stádiumát előre jelezni.

2.2 A zsírmáj kvantitatív diagnosztikája kémiai eltolódás-alapú mágneses rezonancia képalkotás és ultrahang paraméterek segítségével

A nem alkoholos zsírmájbetegség (NAFLD) a leggyakoribb CLD, világszerte 30%-os a prevalenciája. Az érintettek 25%-nál az NAFLD-hez krónikus hepatitis társulhat, ami nem alkoholos szteatohepatitis (NASH) kialakulását eredményezi. A prevalencia gyors növekedése szoros összefüggést mutat a kóros elhízás és a 2-es típusú cukorbetegség (T2DM) szinte járványszerű elterjedésével. Szteatózisban a májsejtek legalább 5%-ában jelen vannak lipid tartalmú makrovezikulák. A stádiumot (S0-S3) az érintett hepatociták százalékos aránya határozza meg. A NAFLD diagnózisához szükséges az egyéb etiológiák kizárása, beleértve a rendszeres alkoholfogyasztást. Ezzel szemben metabolikus diszfunkcióval összefüggő szteatotikus májbetegség (MASLD) akkor diagnosztizálható, ha zsírmáj mellett legalább egy kardiometabolikus rizikófaktor is jelen van.

Minden szakmai ajánlás egyetért abban, hogy a zsírmáj kimutatására elsődlegesen nem invazív tesztekkel kell használni. Jelenleg a legpontosabb a kémiai eltolódáson alapuló MRI (CS-MRI). Különböző echoidóknál az eredő mágneses vektor, ami víz és zsír protonok jelének vektori összege, a rezonanciafrekvencia különbségek miatt változó nagyságú, amiből magnitúdó vagy komplex rekonstrukciós módszerekkel kiszámítható az MRI zsírfrakció (MRI-PDFF) és a T2* relaxivitás (R2*). Ugyanakkor az alapiagnosztikában fontosabb az UH vizsgálat szerepe. A zsírmáj jól megítélhető B-módban készült UH vizsgálaton a fokozott reflektivitás és a disztális hanggyengítés alapján, de ezek csak >20% zsírfrakciónál adnak megbízható eredményt. Léteznek a hagyományos UH jeleken alapuló szemikvantitatív pontrendszerek is, mint az ultrahangos zsírmáj index (US-FLI), de körülményes használatuk miatt csak a klinikai vizsgálatokban terjedtek el. A hepatorenális fényességi index (HRI) a máj és a jobb vese kéreg echogenitásának hányadosa. Már a klinikai gyakorlatban is elérhető olyan mesterséges intelligencia (MI), ami rögzített UH képeken teljesen önműködő HRI-mérést végez. A kvantitatív ultrahang (QUS) módszerek a visszaverődő hanghullámok által kiváltott rádiófrekvenciás jel frekvencia- és amplitúdóeloszlását elemzik. Az egyik legelterjedtebb biomarker a hanggyengítési együttható (AC), melynek mértékegysége a dB/cm/MHz. A visszaszóródási-intenzitáseloszlási együttható (BSC-D) a máj fokozott fényességét okozó szórt hanghullámok amplitúdó eloszlási görbéjét számszerűsíti. A QUS paramétereiből regressziós modellek segítségével az MRI-PDFF-hez hasonló ultrahanggal becsült zsírfrakció (UEFF) számolható. Az UEFF kiértékelése egyszerű, pontossága korai szteatózis diagnosztikájában felülmúlja a többi UH-os módszerét.

2.3 Mikrovaszkuláris Doppler áramlásmérés gócos májléziókban

A mikrovaszkuláris Doppler áramlási képalkotás (MVFI) olyan korszerű Doppler-alapú UH módszer, amely adaptív zajszűréssel és háromdimenziós falfilterek használatával képes láthatóvá tenni a szövetekben az ultralassú sebességű áramlási jelet és a mikroér hálózatot. A módszer hatékonyan elkülöníti a valódi, nagyon lassú véráramlásból eredő Doppler jelet, a légzésből, szív működésből és egyéb szöveti mozgásokból eredő elmozdulásoktól, így a színes

Doppler képalkotásnál (CDI) lényegesen érzékenyebb, miközben jobb térbeli és időbeli felbontást biztosít. Az MVFI-vel a gócos májelváltozásokban (FLL) gyakran jellegzetes és reprodukálható mikrovaszkuláris érelaszlási mintázatok ábrázolhatók. Hemangiómák vizsgálata során a leggyakrabban látott mintázatok a pontozott és fátyolos szélű pontozott eloszlás voltak. Fokális noduláris hiperpláziában (FNH) MVFI-vel gyakran kimutatható és a viszonylag specifikus a kerékküllő mintázat. Ezt az MVFI megbízhatóbban ábrázolja, mint a hagyományos CDI, és multicentrikus vizsgálatok szerint megfelelő klinikai környezetben lehetővé teszi a kontrasztanyag nélküli diagnózist is. A hepatocelluláris adenómák (HCA) gyakran mutatnak tumoron belüli artériás áramlást, de a mintázat mind az FNH-val, mind a HCC-vel átfedhet, ezért a diagnózist kontrasztanyagossal vizsgálattal is szükséges megerősíteni. Összefoglalva az MVFI mintázatok hozzájárulhatnak a diagnózis pontosításához FLL-k UH vizsgálatai során.

2.4 Gócos májléziók mesterséges intelligencián alapuló MRI diagnosztikája

A véletlenszerűen felfedezett májdaganatok a képalkotóval vizsgált betegek 10–33%-ában kerülnek felismerésre. A májban kimutatott FLL-k leggyakoribb típusai: a májciszták, a hemangióma, az FNH és a szteatózis lokális eloszlási különbségei. Az MRI képalkotás előnye, hogy a legnagyobb lágyrész kontrasztot adja. Az FLL-k diagnosztikájában átlagos érzékenysége 94%, fajlagossága 82%. A máj FLL-k vizsgálatánál fontos információt nyerhetünk hepatobiliáris fázisú (HBP) kontrasztanyagok használatával. A HBP kontrasztot a májsejtek aktívan felveszik, és kiválasztják az epeutakba; ezért HBP-ben a működő májsejteket tartalmazó daganatok jeladása megnő, míg más elváltozások nem adnak jelet. A HBP kontrasztanyagok legfontosabb indikációi közé az FNH és a HCA megkülönböztetése, a kis méretű metasztázisok megtalálása, és a HCC-re gyanús elváltozások pontosabb megítélése tartozik.

A konvolúciós neurális hálózatok (CNN-ek) a MI-k képelemzésre kifejlesztett speciális típusai, amelyek konfigurálható konvolúciós rétegekkel képesek kinyerni és tömöríteni a radiológiai képek jellemzőit. A radiológiában a CNN-ek használhatók szervek vagy elváltozások detektálásra, körvonalaik megjelölésére (szegmentálásra), a léziók típusának és képi jellemzőinek automatizált felismerésére, de elterjedően vannak a képrekonstrukció és a képmínőség javító alkalmazások is. A megfelelően betanított CNN-k diagnosztikus megbízhatósága jó, és sokszor összehasonlítható az emberi vizsgálók teljesítményével. A CNN-n alapuló diagnosztika egyik hátránya lehet, hogy a tanító esetek között szerepel minden a májban potenciálisan előforduló elváltozás, illetve az egy szövettani csoportba tartozó elváltozások képalkotó megjelenése sem teljesen egységes, ezért a modellek rutin klinikai körülmények között nem érnek el megfelelő pontosságot. Ezért az FLL-k osztályozása mellett fontos, hogy az MI modellek a radiológiai jellemzőket is felismerjék, mert ezekkel a megbízhatóbban kiszűrhetők a magasabb malignitási kockázatú elváltozások.

2.5 A genomikai mintázatok vizsgálata hepatokarcinogenezisben

A HCC a primer májkarcinómák leggyakoribb típusa, mely 90%-ban CLD és májcirrózis talaján alakul ki. A HCC halálozási aránya magas, 75–85%. Az előfordulás a világon 2026-ban várhatóan meghaladja az 1 millió embert. A diszplasztikus göbök (DN-k) preneoplasztikus elváltozások, melyek a regeneratív göbök mellett viszonylag gyakran fordulnak elő májcirrózisban. A patológiai besorolás alacsony grádusú, magas grádusú DN-t, valamint korai és előrehaladott HCC-t különböztet meg. Nyomon követéses vizsgálatokban a malignus transzformáció aránya az első, harmadik és ötödik évben 46,2%, 61,5% és 80,8% volt magas grádusú DN-k esetében.

A hepatocita növekedési faktor (HGF) egy mezenchimális eredetű mitogén és motogén fehérje, az epiteliális sejtek ligandja, a szervfejlődés, illetve a májregeneráció kulcsfontosságú szabályozója. A HGF receptora a mezenchimális-epiteliális tranzíciós faktor (MET) egy transzmembrán receptor tirozin-kináz, amely ligand bekötődésének hatására dimerizálódik és autofoszfórilálódik, elindítva a jelátvitelt. A MET aktivációja mitogén, motogén, túlélési és invazív programokat egyszerre indít el, amelyek jellegzetes úgynevezett „invazív növekedési” fenotípust eredményeznek. A Met génkiütött (KO) állatmodell embrionális korban letális. Ezért a MET-aktivációjának vizsgálata értett májsejtjekben csak kondicionális Met KO egérmodellből izolált és vad típusú (WT) primer hepatociták összehasonlításával lehetséges.

A madár myelocitomatózis vírus onkogén celluláris homológja (MYC) egy transzkripciósfaktor, melynek expressziója erősen szabályozott, és szorosan kapcsolódik a sejt növekedéshez, az apoptózishoz és a differenciálódáshoz. A MYC aktiváció és a hepatokarcinogenezis között összefüggését először a MYC HCC-ben tapasztalt magas expressziója, illetve HCC-ben gyakori MYC amplifikáció alapján vetették fel. A HBV vírus által termelt onkogén fehérje a HBx is részben a MYC átíródás fokozásával fejti ki tumorpromóter hatását.

A modern genetikai és sejtbiológiai módszerekkel végzett vizsgálatoknak köszönhetően, óriási előrelépés történt a HCC kialakulásában szerepet játszó legfontosabb onkogén és tumorszuppresszor útvonalak megértésében. A sejtekben vagy szövetekben, a gének együttes kifejeződését, a génexpressziós mintázatot, a génekről átíródó hírvivő ribonukleinsav (mRNS) szintek profilozása során vizsgálhatjuk. Az expressziós profilok globális vizsgálatához kifejlesztett technikák közül a komplementer dezoxiribonukleinsav (cDNS) és oligonukleotid mikroarray hibridizációja, illetve az új generációs szekvenálási technikák terjedtek el szélesebb körben. Genetikailag módosított állatmodellekből nyert mintákban, vagy sejtvonalakon az expressziós profilozás segítségével meghatározhatjuk bizonyos onkogének aktivációja által kiváltott specifikus génkifejeződési mintázatokat. Összehasonlító genetikai adatbázisok, mint a HomoloGene adatbázis segítséget nyújtanak abban, hogy az egérben azonosított célgének humán ortológjait megtaláljuk. Ezen ortológok átíródását vizsgálva a humán HCC-k, olyan alcsoportjait azonosíthatjuk be, amelyeket egy-egy jelátviteli útvonalhoz vagy onkogénhez társítható expresszió mintázat és fenotípus jellemez. Ezért az összehasonlító genomikai elemzések elősegíthetik azon betegek kiválasztását, akiknél egy onkogénre vagy jelátviteli útvonalra célzott daganatellenes kezelésnél a legjobb eredmény várható.

3. Célkitűzések

3.1 Célunk, a májfibrózis nem invazív kimutatása és a stádium meghatározása SWE méréssel és CT vizsgálatok radiomikai elemzésével, valamint a LSM követése sikeres anti-HCV kezelés után.

3.2 Céljaink, a CS-MRI rekonstrukciós módszerek összehasonlítása, az MI támogatott HRI és a QUS biomarkerek teljesítményének vizsgálata, illetve egy UEFF modell kidolgozása NAFLD betegekben.

3.3 Célunk volt az MVFI-vel ábrázolható vaszkuláris mintázatok vizsgálata FNH-kban és FLL-k más gyakori típusaiban, illetve az MVFI mintázatok diagnosztikus értékének meghatározása.

3.4 Vizsgálataink célja CNN modellek kifejlesztése az FLL-k osztályozására és legfontosabb képi jellemzőinek automatikus felismerésére HBP kontrasztanyaggal készült MRI vizsgálatokon voltak.

3.5 Célunk volt, a HGF/MET útvonal által szabályozott génexpressziós mintázat meghatározása, illetve MET célgének aktivációjának kimutatása humán HCC-kben.

3.6 Célul tűztük ki, a hepatokarcinogenezis korai stádiumaiban zajló génexpressziós változások feltérképezését és ezek hátterében álló jelátviteli útvonalak azonosítását.

4. A májfibrózis képalkotó biomarkerei

4.1 Betegcsoport I.

4.1.1 A prospektív vizsgálat során 49 krónikus HCV hepatitisszel diagnosztizált betegnél és 10 egészséges kontroll személy esetén határoztuk meg az LSM értéket SWE módszerrel. Referenciaként a VCTE módszerrel mért LSM értékeket használtuk, melyek alapján meghatároztuk a METAVIR stádiumot is.

4.1.2 Prospektív nyomon követés során, 39 krónikus HCV betegnél a DAA kezelés előtt és a SVR esetén a kezelés előtt és kezelés befejezését követő (EOT) 48. héten történt LSM mérés SWE-vel, illetve a klinikai és laboratórium markerek alapján a fibrózis meghatározása.

4.1.3 A retrospektív adatgyűjtés során 32 CLD beteg portális vénás fázisú (PVP) CT felvételein 354 anatómiai májszegmentumot manuálisan megrajoltunk, majd az ezekből meghatározott radiomikai paraméterekkel, gépi tanulással modelleket tanítottunk be az előrehaladott májfibrózis kimutatására. Referenciaként az SWE-vel meghatározott fibrózis stádiumot használtuk.

4.2 Módszerek I.

4.2.1 Prospektív adatgyűjtés

A CLD betegcsoportban az egy pontban mért nyíróhullám elasztográfia (pSWE) méréseket, illetve a HCV betegek LSM értékeit a kezelés előtt és az EOT 48. héten prospektíven

gyűjtöttük ki. A DAA-val kezelt krónikus HCV betegcsoportban az SVR-t 24 és 48 héttel az EOT után a polimeráz-láncreakció (PCR) módszerrel igazoltuk. A betegeket a Baveno VI irányelvek szerint a endoszkópos kezelést igénylő varixok (VNT) szempontjából alacsony és magas kockázatú csoportokban soroltuk.

4.2.2 Retrospektív adatgyűjtés

A radiomikai elemzéshez használt CT-vizsgálatokat retrospektíven gyűjtöttük ki. Retrospektív adatgyűjtés során a demográfiai és a klinikai adatokat, illetve a laboratóriumi vizsgálatok eredményeit a Medsol rendszerből a vizsgálati képanyagokat a Semmelweis Egyetem képatchiváló és továbbító rendszeréből (PACS) kerestük vissza.

4.2.3 Ultrahangos SWE mérés

Az SWE méréseket hasi UH vizsgálat közben végeztük Samsung RS85 (Samsung Medison Co, Ltd, Korea) készülékkel és CA1-7A és CA1-7S konvex hasi vizsgálófejekkel. A betegek éhgyomorral érkeztek. Mindkét mérést a máj jobb lebenyében háton fekvő helyzetben végeztük. Az S-Sheawave™ alkalmazással a vizsgáló által a májparenchimában kiválasztott mérési ablakban (ROI) mértük meg az LSM-et és hozzá tartozó megbízhatósági indexet (RMI). Az LSM-t tízszer megismételtünk és a középértékét használtuk az elemzéshez. Eredményesnek tekintettünk a mérést, ha legalább 5 LSM értéknél az $RMI \geq 0,4$ és az interkvartilis tartomány medián hányados (IQR/M) $<30\%$ volt. Az SWE-vel mért LSM mértékegysége a m/s, amelyet kPa-ba is átváltottunk.

4.2.4 CT-vizsgálatok radiomikai elemzése

A PVP CT vizsgálati képanyagokat retrospektíven gyűjtöttük ki. az anatómiai májszegmentumok határait manuálisan rajzoltuk meg a 3D Slicer programot (www.slicer.org) használva. A PyRadiomics (<https://pyradiomics.readthedocs.io>) szoftver minden egyes szegmentumból 1117 radiomikai paramétert határozott meg. A paraméterek szűrését követően, a szegmentumok csoportosíthatóságát először nem felügyelt gépi tanulási módszerekkel, mint a k-átlag és a hierarchikus klaszterelemzés vizsgáltuk. A felügyelt gépi tanulás során az adatokat tanító és teszt halmazokra bontottuk. A szupport vektor gép (SVM) és random erdő osztályozó (RFC) algoritmusokat keresztvalidáció során tanítottuk be korai (F0-F2) és előrehaladott (F3-F4) májfibrózis elkülönítésére. A modellek pontosságát a tesztalmazon ellenőriztük.

4.2.5 Statisztikai elemzés

A normál eloszlást mutató paraméterek esetén az csoportok átlagát t-próbával és ANOVA teszttel hasonlítottuk össze. A változók közötti lineáris összefüggést Pearson korrelációs együtthatóval (r) vizsgáltuk, amelyeknél a 95% konfidenciaintervallumokat (CI) is kiszámoltuk. A független paraméterek hatását a kimentő változókkal egy és többváltozós lineáris regresszioelemzéssel vizsgáltuk. A Fisher-féle egzakt próbát és Chi-négyzet próbát (χ^2) használtunk a betegek csoportok közötti eloszlásának vizsgálatára. Az eloszlások alapján esélyhányadosokat (OR) is számoltunk. A megbízhatóságot a csoporton belüli korrelációs együttható (ICC), illetve a Cohen-féle kappa (κ) számítással ellenőriztük. A diagnosztikus hatékonyságot vevő működési karakterisztika (ROC) görbe elemzés során és a görbe alatti terület (AUC) számításával vizsgáltuk. A diagnosztikus küszöbértékeknél meghatároztuk a szenzitivitást, a specificitást, a pozitív (PPV) és a negatív prediktív értékeket (NPV). Statisztikailag szignifikánsnak tekintettük a $p < 0,05$ értéket. Többszörös összehasonlítások esetén a szignifikancia küszöböt úgy korrigáltuk, hogy az I. típusú statisztikai hiba ne változzon.

4.3 Eredmények I.

4.3.1 Krónikus HCV-asszociált fibrózis kimutatása SWE módszerrel

A pSWE technikai sikeraránya 95% volt (112/118), figyelembe véve a két vizsgáló által értékelt összes esetet. 4 betegnél (6,7%, 4/59) vagy az egyik (2/59), vagy mindkét vizsgáló (2/59) csak kevesebb, mint öt érvényes LSM értéket tudott mérni. A Bland-Altman elemzés és az ICC teszt kiváló egyezést talált a két vizsgáló által mért LSM értékek között (ICC = 0,92, $p < 0,001$). Kitűnő egyezést találtunk a pSWE és a 2D-SWE értékek között is, amelyet az egyik megfigyelő mért (ICC = 0,91, $p < 0,001$) 18 betegben. Kiváló korrelációt találtunk mind az első ($r = 0,91$, $p < 0,001$), mind a második vizsgáló ($r = 0,8$, $p < 0,001$) által mért és a VCTE-vel mért LSM értékek között. Összességében a két vizsgáló által pSWE-vel mért LSM-k szignifikáns különbséget mutattak a METAVIR stádiumok között. A ROC elemzés alapján, a pSWE elfogadható pontossággal (AUC = 0,72, $p < 0,001$) tudott különbséget tenni a nem szignifikáns (F0 és F1) és a mérsékelt (F2) fibrózis, valamint kiváló pontossággal (AUC = 0,96, $p < 0,001$) a közepes (F2) és előrehaladott ($\geq$ F3) fibrózis között. A fibrózt (F0-F3) és a cirrózist (F4) szintén nagyon jó arányban (AUC = 0,89, $p < 0,001$) tudta megkülönböztetni.

4.3.2 Az LSM változása antivirális kezelést követően krónikus HCV betegekben

Az LSM szignifikánsan alacsonyabb volt ($p < 0,001$) az EOT 48. héten ($1,90 \pm 0,50$ m/s) mint a kezelés előtt ($2,59 \pm 0,89$ m/s). Az LSM alapján számolt METAVIR stádium a kezelés után szignifikáns javulást mutatott ($p < 0,028$) (F0/1 = 9, F2 = 2, F3 = 10, F4 = 14) a kiindulási állapothoz képest (F0/1 = 2, F2 = 1, F3 = 7, F4 = 25) (táblázat 1).

táblázat 1: Az SWE-vel mért LS változása anti-HCV kezelést követően.

	Kezelés előtt	EOT48	Szignifikancia	OR
LSM	$2,59 \pm 0,89$ m/s	$1,90 \pm 0,50$ m/s	$p < 0,001$	
F0-F4¹			$p = 0,028$	
F0/1	2 (5,7%)	9 (25,7%)	$p = 0,045$	5,71 (1,13–28,74)
F2	1 (2,8%)	2 (5,7%)	$p = 1,00$	2,06 (0,18–23,82)
F3	7 (20%)	10 (28,6%)	$p = 0,578$	1,60 (0,53–4,83)
F4	25 (71,4%)	14 (40%)	$p = 0,015$	0,27 (0,09–0,72)

¹SWE-alapján meghatározott stádiumok, EOT48: az antivirális kezelés befejezését követő 48. héten, LSM: májmerevségmérés, OR: esélyhányados

A májfunkciós enzimek mellett, a fibrózis-4 index (FIB-4) is szignifikánsan ($p < 0,018$) csökkent a kezelés utáni ($2,04 \pm 1,12$ m/s) a kezelés előtti állapothoz képest ($3,51 \pm 2,24$ m/s). Az kezelést megelőzően talált 5 Child-Turcotte-Pugh (CTP) B cirrózis beteget közül az EOT 48. héten 4 lett CTP A stádiumú. Az endoszkópos VNT magas kockázatát 15 cirrótikus betegnél észleltük a kiinduláskor és négy betegnél a követés során (OR = 0,17, $p < 0,007$) (táblázat 2)

táblázat 2:a klinikai és laboratóriumi indexek anti-HCV kezelést követően.

	Kezelés előtt	EOT48	Szignifikancia	OR
Ascites	2 (6%)	1 (3%)	p <1,00	0,49 (0,04–5,61)
FIB-4	3,51 ± 2,24	2,04 ± 1,12	p <0,018	NA
VNT	15 (42%)	4 (11%)	p <0,007	0,17 (0,05–0,59)
CTP				
A	30 (86%)	34 (97%)	p <0,127	5,67 (0,63–51,27)
B	5 (14%)	1 (3%)		0,18 (0,02–1,60)
C	0	0	NA	NA
MELD				
<10	25 (71%)	25 (71%)	p <1,00	1,00 (0,35–2,82)
<20	8 (23%)	9 (26%)	p <1,00	0,86 (0,29–2,56)
<25	2 (6%)	1 (3%)	p <0,619	2,06 (0,18–23,82)
≥25	0	0	NA	NA

CTP: Child-Turcotte-Pugh osztályozás, EOT: antivirális kezelés befejezését követő, FIB-4: fibrózis 4 index, MELD: model for end-stage liver disease pontszám, NA: nincs adat, OR: esélyhányados, VNT: kezelést igénylő varixok.

4.3.3 A májfibrózis kimutatása CT textúra elemzéssel

A nem felügyelt klaszterezés a szegmentumokat 4 fő csoportba sorolta (C1-C4). Az átlagos denzitás szignifikánsan magasabb volt a C4 klaszterben ($110\text{HU} \pm 10,1\text{HU}$, $p < 0,001$), mint a C1 ($96,1\text{HU} \pm 11,3\text{HU}$), C2 ($90,8\text{HU} \pm 1,0$) és C3 ($93,1\text{HU} \pm 17,5\text{HU}$) klaszterekben. A szkennertípusában és az LSM-ben viszont nem volt eloszlási különbség. A felügyelt gépi tanulás során a véletlenszerűen válogatott teszt halmazban az RFC (1. modell) kiváló ($\text{AUC} = 0,90$), az SVM (2. modell) pedig elfogadható ($\text{AUC} = 0,76$) diagnosztikus pontossággal különböztette meg a korai és előrehaladott stádiumú fibrózist. A 16-szeletes teszthalmazban mind az RFC (3. modell) pontossága ($\text{AUC} = 0,88$), mind az SVM (4. modell) eredményessége ($\text{AUC} = 0,90$) nagyon jó volt és nem romlott a tanító halmazhoz képest (**táblázat 3**)

táblázat 3:a radiomikai modellek korai vs. előrehaladott fibrózis kimutatásában.

	RFC (1. modell)	SVM (2. modell)	RFC (3. modell)	SVM (4. modell)
Paraméterek	2	18	28	66
Tanító AUC¹	0,95 (0,91–0,98)	0,88 (0,81–0,94)	0,84 (0,82–0,85)	0,91 (0,88–0,94)
Teszt AUC¹	0,90 (0,85–0,95)	0,76 (0,67–0,84)	0,88 (0,84–0,91)	0,90 (0,87–0,93)
Szenzitivitás	86%	93%	86%	83%
Specifitás	78%	31%	92%	95%
NPV	89%	73%	81%	78%
PPV	73%	69%	94%	96%

¹ AUC és (95%-os konfidencia intervallum), AUC: ROC görbe alatti terület, NPV: negatív prediktív érték, PPV: pozitív prediktív érték, RFC: random erdő osztályozó, SVM: szupport vektor gép

4.4 Megbeszélés I.

A pSWE mérés a megfelelő vizsgálati protokoll betartása és a minőségi indikátorok figyelembevétele mellett, megbízható, reprodukálható a VTCE-vel csaknem megegyező diagnosztikus pontosságú alternatívát jelent a szignifikáns májfibrózis objektív kimutatására és májfibrózis stádiumának meghatározására krónikus hepatitis C betegeknél. Az SWE előnye más nem invazív mérési módszerekkel szemben, hogy nem igényel speciális műszer beszerzését, mivel a rutin hasi ultrahang vizsgálat során, rövid idő alatt elvégezhető. A mérés helyét a vizsgáló ellenőrizni tudja és azonnal összehasonlíthatja a típusos morfológiai eltérésekkel, ami növeli a reprodukálhatóságot és a fokozza vizsgálat magabiztosságát és a beteg bizalmát a mérés eredményében.

Az SWE kiváló módszer a krónikus HCV fertőzés miatt kialakult CLD követésére sikeres antivirális kezelést követően. Mivel egyidőben végezhető a B-mód UH vizsgálattal az LSM-el együtt a fibrózisban gyakrabban kialakuló HCC szűrése, és a portális hipertónia morfológiai jeleinek, például splenomegalia, ascites, varixok kimutatása is lehetséges. Ezek alapján pontosabban meghatározható a jelentős fibrózis és cirrózis szövödményeinek, például a varixvérzés kockázata, ami befolyásolja a betegek nyomon követésének menetét, indikálhatja endoszkópia, vagy akár májtranszplantáció szükségességét is.

A radiomikai elemzés lehetővé teszi, hogy rutin klinikai protokoll szerint készült PVP CT vizsgálatokon kimutassuk a jelentős fibrózist. Ez a módszer nem függ a CT-készülék típusától és objektívebb, mint a leletező radiológus szubjektív értékelése, amelynek érzékenysége a májfibrózis kimutatásánál általában alacsony. Ezért a CT-vizsgálatok radiomikai elemzése akár szűrővizsgálatként is használható, olyan veszélyeztetett betegcsoportokban, akiknél bármilyen klinikai indikációval PVP CT felvételek készültek.

5. A zsírmáj nem invazív mérése képalkotó eljárásokkal

5.1 Betegcsoport II.

5.1.1 A prospektív vizsgálat során 101 betegnél történt QUS vizsgálat, akiknél klinikailag felmerült az NAFLD gyanúja. Az MRI-PDFF értékeket használtuk referencia mérésneként.

5.1.2 A retrospektív vizsgálat során 90 NAFLD és 51 metabolikus diszfunkcióval összefüggő zsírmájbetegség (MAFLD) irányában vizsgált beteg QUS és MRI-PDFF méréseinek eredményeit gyűjtöttük ki. Majd az NAFLD eseteket tanító a MAFLD eseteket teszt halmazként használva legkisebb négyzetek elvén alapuló modellt használtunk a zsírfrakció megbecslésére.

5.1.3 A prospektívan gyűjtött 102 NAFLD beteget tartalmazó kohorszban 108 esetben történt MI támogatott HRI mérés (AI-HRI) illetve a B-módban készült UH képanyag alapján meghatároztuk az US-FLI pontszámot. 68 esetben az MI támogatott HRI mérést két vizsgáló egymástól függetlenül is megismételte. Referenciaként az MRI-PDFF értékeket használtuk.

5.1.4 A vizsgálat során, saját fantomon és nemzetközi adatbázisban elérhető fantom adatokon hasonlítottuk össze a CS-MRI képekből többféle algoritmussal rekonstruált zsírfrakció térképek pontosságát. Húszt különböző súlyosságú zsírmájjal diagnosztizált NAFLD betegből gyűjtött CS-MRI vizsgálatokon pedig, a rekonstrukciós algoritmusok közötti reprodukálhatóságot és a műtermékek előfordulását vizsgáltuk.

5.2 Módszerek II.

5.2.1 Adatgyűjtés

A QUS és az AI-HRI mérések diagnosztikus pontosságának vizsgálata során a képanyagokat prospektívan gyűjtöttük össze. Az UEFF számítás és az MRI-PDFF rekonstrukciós módszerek összehasonlítása során a betegvizsgálatok adatait retrospektíven kerestük vissza. Az adatgyűjtés során a demográfiai és a klinikai adatokat, illetve a laboratóriumi vizsgálatok eredményeit a Medsol rendszerből a vizsgálati képanyagokat az egyetemi PACS rendszeréből értük el.

5.2.2 Ultrahangos QUS és AI-HRI mérések

Az QUS méréseket hasi UH vizsgálat közben végeztük Samsung RS85 (Samsung Medison Co, Ltd, Korea) készülékkel és CA1-7S konvex hasi vizsgálófejjel. A betegek éhgyomorra érkeztek. A méréseket a máj jobb lebenyében hátán fekvő helyzetben végeztük. A QUSTM alkalmazásban az AC a TAITM a BSC-D a TSITM paraméternek felelt meg. A QUS paramétereket a vizsgáló által a májparenchimába helyezett színkódolt ROI-ban mértük meg. Az AI-HRI mérés során a vizsgáló egy képen ábrázolta a jobb vese és a máj hosszmetsetét, majd az EzHRITM alkalmazás önműködően kör alakú ROI-kat helyezett a vese kéreg és a máj területére és kiszámolta az AI-HRI-t. A QUS és AI-HRI mérést ötször megismételtünk és a középértékét használtuk az elemzéshez. A TAI mértékegysége a dB/cm/MHz, a TSI és az AI-HRI mértékegység nélküli paraméterek.

5.2.3 MRI vizsgálatok és zsírfrakció méréshez fantom készítése

Az MRI vizsgálatok egy Philips Ingenia 1.5 T (Philips Healthcare, Amsterdam, Hollandia) szkennerral készültek intézményünkben. A kvantitatív MRI rekonstrukciókhoz kétdimenziós (2D) multiecho grádiensecho szekvenciával képeztük le a májat a porta szintjében. A magnitúdó és komplex képanyagok alapján két-két algoritmust: klasszikus magnitúdó kép rekonstrukció (MAG) és magnitúdó-alapú zsírfrakció és R2* becslés Rice-eloszlású zaj modellezéssel (MAG-R), illetve komplex gráfvágó (GC) és komplex kvadratikus pszeudo-boole-i optimalizáció és gráfvágó (QPBO) használtunk az MRI-PDFF térképek rekonstrukciójához. A rekonstrukciók Matlab és Python szoftver környezetben történtek. A saját MRI fantom egy ionmentes vízzel töltött hengeres műanyag tartályból készült és hét darab 10 ml-es (kb. 14 mm átmérőjű)

polipropilén műanyag fecskendőt tartalmazott. A fecskendőkbe Intralipid 20%-os emulzió és fiziológiás sóoldat különböző arányú keverékeit töltöttük.

5.2.4 Statisztikai elemzés

A normál eloszlást mutató paraméterek esetén az csoportok átlagát t-próbával és ANOVA teszttel, a normál eloszlástól eltérő adatok esetén Wilcoxon és Kruskal-Wallis teszttel hasonlítottuk össze. A változók közötti lineáris összefüggést a Pearson korrelációval jellemeztük. A paraméterek hatását egy és többváltozós lineáris és logisztikus regressziós elemzéssel vizsgáltuk. A Fisher-féle egzakt próbát használtunk a betegek csoportok közötti eloszlásának vizsgálatára. Az eloszlások alapján OR-t is számoltunk. A megbízhatóságot a ICC számítással ellenőriztük. A diagnosztikus hatékonyságot az AUC-kal vizsgáltuk. A diagnosztikus küszöbértékeknel meghatároztuk a szenzitivitást, a specificitást, az NPV-t és a PPV-t. Az UEFF becslésénél a modelleket a legkisebb négyzetek analízisével optimalizáltuk. A modellek illeszkedését a determinációs együttható (R^2) alapján hasonlítottuk össze. Az illesztett modelleket ismételt keresztvalidációval ellenőriztük. Az MRI-PDFF rekonstrukciókkal kapott eredményeket többváltozós ANCOVA-val hasonlítottuk össze, ahol a valódi zsírfrakció kovariánsként szerepelt. Statisztikailag szignifikánsnak tekintettük a $p < 0,05$ értéket. Többszörös összehasonlítások esetén a szignifikancia küszöböt úgy korrigáltuk, hogy az I. típusú statisztikai hiba ne változzon.

5.3 Eredmények II.

5.3.1 A QUS biomarkerek diagnosztikus értékének vizsgálata szteatóziszban

Szignifikáns, pozitív korrelációt találtunk az TAI ($r = 0,78$), a TSI ($r = 0,68$) és az MRI-PDFF értékek között. Az NAFLD betegcsoportban mért TAI értékek szignifikánsan különböztek az egészséges ($0,682 \pm 0,08$ dB/cm/MHz), $\geq 5\%$ ($0,792 \pm 0,09$ dB/cm/MHz, $p < 0,014$) és a $\geq 10\%$ ($0,95 \pm 0,13$ dB/cm/MHz, $p < 0,003$) MRI-PDFF csoportok között. A TSI szintén szignifikáns különbséget mutatott az egészséges ($91,6 \pm 9,7$) a $\geq 5\%$ ($102,0 \pm 6,2$, $p < 0,007$) és a $\geq 10\%$ ($108,0 \pm 4,4$, $p < 0,017$) MRI-PDFF csoportok között. Az TAI AUC értékei $\geq 5\%$ -os és $\geq 10\%$ -os MRI-PDFF-nél 0,92 és 0,93 voltak. A $\geq 5\%$ -os szteatózisz diagnosztikus küszöbértéke 0,76 dB/cm/MHz, a $\geq 10\%$ -os szteatózisé 0,85 dB/cm/MHz, melyeknél az érzékenység, specificitás, NPV, PPV és pontossága pedig 88%, 86%, 79%, 92%, 87%, illetve 78% 89%, 84%, 84%, 84% voltak. A TSI-vel az AUC értékek $\geq 5\%$ -os szteatózisz esetén 0,91, $\geq 10\%$ -os szteatóziszánál 0,88, a küszöbértékek 100,6 és 103,1 voltak, ami 88%, 86%, 79%, 92% és 87%, valamint 85%, 77%, 87%, 74%, illetve 81% érzékenységet, specificitást, NPV-t, PPV-t és pontosságot eredményezett. A TAI-vel kiváló ($ICC = 0,95$) a TSI-vel elfogadható volt vizsgálok között reprodukálhatóság ($ICC = 0,73$).

5.3.2 Az ultrahangos zsírfrakció becslés nem lineáris modell alapján

A TAI-vel mért AC és a TSI-vel mért BSC-D értékeket kombináló nem-lineáris modell illeszkedése az NAFLD ($R^2 = 0,446$) és az MAFLD ($R^2 = 0,673$) betegcsoportokban is jobb volt, mint a lineáris modellé. A korreláció az kombinált modellel becsült UEFF és az MRI-PDFF között az NAFLD betegcsoportban jó ($r = 0,735$) a MAFLD betegcsoportban kiváló ($r = 0,828$) volt. Az UEFF csaknem tökéletes pontossággal jelezte előre a $\geq 5\%$ -os szteatózist mind a NAFLD ($AUC=0,97$) mind a MAFLD ($AUC=0,99$) csoportokban, illetve kiváló pontossággal diagnosztizálta $\geq 10\%$ -os szteatózist ($AUC=0,91-0,96$) is (táblázat 4).

táblázat 4: az UEFF modell diagnosztikus teljesítménye.

	<5% vs. ≥5% MRI-PDFF		<10% vs. ≥10% MRI-PDFF	
	NAFLD csoport	MAFLD csoport	NAFLD csoport	MAFLD csoport
Vágóérték	6,36%	5,22%	11,64%	8,74%
AUC	0,97	0,99	0,91	0,96
Szenzitivitás	0,92	0,96	0,86	0,93
Specifititás	1	0,96	0,88	0,94
PPV	1	0,96	0,89	0,88
NPV	0,76	0,96	0,84	0,97
Pontosság	0,93	0,96	0,87	0,94

AUC: ROC görbe alatti terület, MAFLD: metabolikus diszfunkcióval összefüggő zsírmájbetegség, NAFLD: nem-alkoholos zsírmájbetegség, NPV: negatív prediktív érték, PPV: pozitív prediktív érték.

5.3.3 Az MI támogatott HRI mérés diagnosztikus teljesítményének vizsgálata

Az AI-HRI szignifikánsan magasabb volt enyhe szteatózisban ($2,155 \pm 0,776$), mint a normál májban ($1,480 \pm 0,607$, $p < 0,003$), és magasabb volt közepes szteatózisban ($2,777 \pm 0,923$, $p < 0,018$) az enyhe szteatózishoz képest. Az AI-HRI értékek azonban nem különböztek szignifikánsan a közepes és súlyos szteatózis között ($2,711 \pm 0,822$, $p < 0,787$). Az US-FLI pontszám nem volt szignifikánsan magasabb enyhe szteatózisban ($0,900 \pm 1,398$) a normál májhoz képest ($1,542 \pm 1,318$, $p < 0,074$), de szignifikáns növekedést mutatott, mind a mérsékelt ($4,000 \pm 1,509$, $p < 0,001$), mind a súlyos esetekben ($5,941 \pm 0,966$, $p < 0,001$). Az AI-HRI elfogadható (AUC = 0,758) és jó (AUC = 0,803) pontossággal tudta kimutatni a $\geq 5\%$ és a $\geq 10\%$ -os szteatózist, amelyekre az optimális vágóértékeket 1,53-nél és 2,25-nél határoztuk meg. Az AI-HRI vizsgálók között reprodukálhatósága (ICC = 0,635) elfogadható volt.

5.3.4 CS-MRI rekonstrukciós módszerek összehasonlítása

A fantom mérések során a MAG-R (0,006%) és a QPBO (0,08%) algoritmus eredménye tért el legkevésbé a várt értéktől, valamivel nagyobb volt a torzítás a MAG (-0,22%), és a GC (-0,59%) rekonstrukciókkal. A betegeken végzett vizsgálatok során a GC és a QPBO rekonstrukciókkal kapott MRI-PDFF értékek között volt a legmagasabb ($r=0,999$) és a MAG, illetve a MAG-R ($r=0,934$) között a legalacsonyabb a korreláció. Betegvizsgálatok során a MAG rekonstrukciókon az MRI-PDFF értékek szignifikánsan alacsonyabbak voltak (átlag = -2,30%, $p = 0,005$), mint a MAG-R térképeken. A módszerek közötti egyetértés kiváló volt (ICC = 0,891). A fázis felcserélődési hibák a MAG- és a GC algoritmusokkal gyakoribbak voltak, mint a QPBO-val.

5.4 Megbeszélés II.

A QUS paraméterek mérésével elérhető lett a zsírmáj pontos és megbízható kimutatását rutinszerűen végzett hasi UH vizsgálatok során is. A QUS mérés érzékenyebb és objektívebb, mint a vizsgáló szubjektív megítélésén alapuló diagnózis és már $\geq 5\%$ zsírtartalmat is ki tud mutatni szemben a klasszikus morfológiai jeleken alapuló kiértékeléssel, amely 10-20%-os zsírtartalomnál kisebbet nem detektál megbízhatóan. A szteatózist számszerűsíteni képes egyéb képalkotó eljárásokkal, például CT vagy MRI, összehasonlítva nem okoz sugárterhelést, hozzáférhetőbb és költségkímélőbb. Ezért a QUS nagymértékben elősegíti az MASLD és az

egyéb etiológiájú szteatózis korai diagnosztikáját és jó reprodukálhatósága, valamint ismételhetősége révén lehetővé teszi ezen betegcsoportok longitudinális nyomon követését is.

Az UEFF kidolgozása tovább javítja a QUS felhasználhatóságát, mivel a készülékenként eltérő diagnosztikus küszöbértékekkel rendelkező QUS paraméterek helyett, az MRI-PDFF-hez hasonló, egységesen értékelhető, a klinikai protokollokba egyszerűen beilleszthető, százalékos értékben határozza meg a máj zsírtartalmát. A klinikai vizsgálatok azt mutatják, hogy kis- és közepes fokú szteatózis kimutatásában az UEFF az MRI-PDFF-hez hasonló pontosságot ér el, és csak jelentős fokú szteatózis esetén becsüli némileg alá a referencia módszerrel meghatározott zsírfrakciót. Ezért ezek módszerek kiválóan felhasználhatók, az obezitás, a metabolikus diszfunkció vagy más klinikai háttérű, fokozott kockázatú betegpopulációkban a zsírmáj felismerésére és a MASLD diagnosztikájára. Az európai populációban, ahol a MASLD prevalenciája elérheti a 20-30%-ot, az UEFF számítás szűrővizsgálatként is alkalmazható, és a MASLD korai felismerése révén segítheti a betegség progressziójának és a szövődmények kialakulásának megelőzését, valamint az életmódváltozás és terápiás beavatkozások hatásának objektív megerősítését.

A zsírmáj UH-diagnosztikáját segíthetik szemikvantitatív módszerek is, amelyek akár retrospektíven a B-módban gyűjtött vizsgálati képanyagok alapján is objektívebb kiértékelést tesznek lehetővé. Ezek közül az AI-HRI mérés teljesen automatizálható, míg a klasszikus képalkotó morfológiai jeleken alapuló pontrendszerek, mint az US-FLI, az értékelést végző szakember tapasztalatától is nagymértékben függenek. Az AI-HRI elsősorban érzékenységen és a diagnózis gyorsaságában múlja felül az US-FLI számítást, ezért alkalmasabb lehet az MASLD szűrésre és korai diagnosztikájára.

Az MRI-PDFF mérés a zsírmáj nem invazív diagnosztikájának referencia módszere. Ezért fontos, hogy olyan rekonstrukciós algoritmust használjunk, ami, pontos, megbízható és a klinikai gyakorlatban is könnyen használható zsírfrakciós térképet tud készíteni. Több nyílt forráskódú, szoftvercsomag is szabadon hozzáférhető, amelyekkel magnitúdó vagy komplex mérési adatokból egyaránt lehet kvantitatív paramétertérképeket készíteni. Ezek közül a komplex módszerek, mint a klasszikus GC vagy a QPBO, viszonylag gyorsan, a 0-100% terjedő teljes spektrumon, nagy pontosságú és megbízható zsírfrakció mérését tesznek lehetővé, ott is, ahol erre a készülék gyártó speciális szoftvere nem áll rendelkezésre. Az MRI-PDFF és R2* paraméter térképek hozzájárulhatnak a májbetegség etiológiájának, például hemokromatózis gyanújában, és stádiumának meghatározásához, ezért a modern hepatológiai ellátásban nélkülözhetetlenek.

6. Gócos májléziók osztályozása és karakterizálása képalkotással

6.1 Betegcsoport III.

6.1.1 Retrospektív vizsgálatunkban összesen 80 betegben, 100 FLL-ről készült UH vizsgálatot gyűjtöttük össze, akiknél MVFI is történt. Két vizsgáló egymástól függetlenül határozta meg a B-mód UH jellemzőket, illetve az MVFI eloszlási mintázatot 41 FNH, 21 HCC, 20 metasztázis, 10 HCA és 8 hemangioma típusú lézióban. A diagnózis megerősítése, a betegek dokumentációja alapján vagy szövettani mintavétellel, vagy kontrasztanyagok képalkotó vizsgálatokon mutatott típusos morfológia alapján, a nemzetközi szakmai ajánlások szerint történt.

6.1.2 A 2D és a háromdimenziós (3D) képi adatokat értékelő CNN modelleket tanítottunk be 69 beteg retrospektíven gyűjtött HBP kontrasztanyag MRI felvételein talált 71 FNH, 69 HCC és 76 metasztázis automatikus csoportba sorolására.

6.1.3 Retrospektíven 99 alany 131 HBP kontrasztanyaggal készült MRI vizsgálatából gyűjtött 105 FNH, 121 HCC, 121 metasztázis és 32 egyéb típusú FLL képanyagán többféle CNN modellt tanítottunk be a diagnózishoz legfontosabb radiológiai jellemzők felismerésére. Az MR morfológiai jeleket két vizsgáló (szakorvos és rezidens) egymástól függetlenül is értékelte.

6.2 Módszerek III.

6.2.1 Adatgyűjtés

Az MVFI értékeléséhez és a CNN-ek tanításához és teszteléséhez használt eseteket retrospektíven gyűjtöttük ki. Az adatgyűjtés során a demográfiai és a klinikai adatokat, illetve a laboratóriumi vizsgálatok eredményeit a Medsol rendszerből a vizsgálati képanyagokat az egyetemi PACS rendszeréből érték el.

6.2.2 MVFI vizsgálat

A gócos májléziók MVFI leképezésére a hasi UH során Samsung RS85 (Samsung Medison Co, Ltd, Korea) készüléket, CA1-7S konvex hasi vizsgálófejet és az MV-FlowTM applikációt használtuk. Két vizsgáló egymástól függetlenül határozta meg a B-mód UH jellemzőket, illetve az MVFI eloszlási mintázatot 41 FNH, 21 HCC, 20 metasztázis, 10 HCA és 8 hemangioma típusú lézióban. A diagnózis megerősítése, a betegek dokumentációja alapján vagy szövettani mintavétellel, vagy kontrasztanyag képkalkító vizsgálatokon mutatott típusos morfológia alapján, a nemzetközi szakmai ajánlások szerint történt.

6.2.3 HBP kontrasztanyag MRI vizsgálat

A HBP kontrasztanyag hasi MRI vizsgálatok intézetünk rutin diagnosztikus protokollja szerint készültek. A képi dokumentációból a T2-súlyozott és a többfázisú dinamikus kontrasztanyag képsorozatot gyűjtöttünk ki. Az FLL-k típusát a beteg korelőzményében szereplő radiológia és szövettani diagnózis alapján határoztuk meg.

6.2.4 MI modellek tanítása

Az ismert FLL-ket tartalmazó képrészleteket minden MRI sorozaton kivágtuk az eredeti képből. A képrészleteket egységesen 32x32 vagy 64x64 pixel felbontásra alakítottuk és a HBP képekhez regisztráltuk. A többféle képsorozatot külön csatornákon tápláltuk be a 2D és 3D adatokat elemző CNN modellekbe. Az FLL-eket véletlenszerűen tanító, ellenőrző és teszt halmazokba osztottuk. A modellek tanítása a Medical Open Network For Artificial Intelligence (MONAI) szoftverkörnyezetben történt. A betanítás után elkészítettük a FLL-k szembetűnőségi és okklúziós térképeit is.

6.2.5 Statisztikai elemzés

A normális eloszlást követő folytonos változókat átlag és SD formátumban, míg a normálistól eltérő eloszlású változókat medián, illetve IQR formátumban írtuk le. Az eloszlás normalitását a Shapiro–Wilk-próbával vizsgáltuk. A csoportjok közötti különbségek értékelésére Wilcoxon-féle rangösszeg-próbát és Kruskal–Wallis-próbát használtunk. A vizsgálok közötti reprodukálhatóságot kategorikus változók esetén Cohen-féle kappa

statisztikával értékeltük. A kategorikus változókra kontingencia táblázatokat készítettünk és az eloszlások összehasonlítására a csoportok között, illetve kezelés előtt és után Fisher-féle egzakt próbát használtunk, az OR-t 95%-os CI-vel együtt számítottuk ki. Az egyes biomarkerek és predikciós modellek diagnosztikus teljesítményét ROC görbével értékeltük, meghatározva az AUC, szenzitivitás, specificitás, NPV, PPV és pontosság mutatókat. A különböző diagnosztikus biomarkerek AUC értékeinek összehasonlítására DeLong-próbát használtunk. Az FNH-k elkülönítésére más gócos májlézióktól logisztikus regressziós modelleket építettünk, amelyekben az MVFI és B-mód jellemzők különböző kombinációi szerepeltek. A modellek tanítása és validálása egy kihagyásos keresztvalidáció (LOOCV) során történt. A diagnosztikus teljesítményt ROC-görbékkel értékeltük, amely során külön elemeztük a <3 cm és a ≥ 3 cm elváltozásokat. A statisztikai szignifikancia határértékét minden összehasonlítás esetén $p < 0,05$ -nél határoztuk meg. Többszörös összehasonlítások esetén a szignifikancia küszöböt úgy korrigáltuk, hogy az I. típusú statisztikai hiba ne változzon.

6.3 Eredmények III.

6.3.1 MVFI eloszlási mintázatok vizsgálata gócos májléziókban

A kerékküllő mintázat az FNH-ra nagy mértékben specifikusnak bizonyult, amit az első vizsgáló (OR = 51,53; 95% CI: 16,68–191,51; $p < 0,001$), valamint a második vizsgáló megfigyelései (OR = 35,28; 95% CI: 12,00–124,65; $p < 0,001$) egyaránt alátámasztottak. Ugyanakkor a kerékküllő rajzolatot nem FNH elváltozásokban is azonosítottunk. Az első vizsgáló ezt a mintázatot 3 HCC-ben (14%), 2 HCA-ban (20%) és 1 áttétben (5%) észlelte, míg a második 4 HCC-ben (19%), 3 HCA-ban (30%) és 3 áttétben (15%) azonosította. Hipovaszkuláris mintázat, az első megfigyelő szerint egyetlen FNH-ban sem fordult elő (0/41), míg az egyéb típusú FLL-k 44%-ában (26/59) volt látható. A második megfigyelő az FNH-k 2%-át (1/41) és az egyéb FLL-k 8%-át (5/59) látta gyengén vaszkularizáltnak. A hat előre definiált MVFI-érmintázat tekintetében jelentős egyezést találtunk ($\kappa = 0,641$; $p < 0,001$) a két vizsgáló között. A kerékküllő mintázat reprodukálhatósága ennél is jobb volt ($\kappa = 0,748$, $p < 0,001$). A kerékküllő mintázat és a centrális artéria független változókat tartalmazó regressziós modell, szignifikánsan pontosabb volt (AUC = 0,891; $p < 0,001$) az FNH-k elkülönítése során, mint a kizárólag B-mód UH jellemzőkre épülő modell (AUC = 0,814) (táblázat 5).

táblázat 5: az FNH elkülönítése MVFI és B-mód jelek alapján.

Modell	AUC	Specificitás	Szenzitivitás	PPV	NPV	Pontosság
MVFI modell (kerékküllő mintázat + centrális artéria)						
Összes lézió	0,891	0,864	0,866	0,816	0,903	0,865
≥ 3cm	0,944	0,917	0,904	0,904	0,917	0,911
B-mód ultrahang modell (echogenitás + centrális heg + körülírtág)						
Összes lézió	0,814	0,831	0,756	0,756	0,831	0,8
≥ 3cm	0,879	0,9	0,808	0,875	0,844	0,857

AUC: ROC görbe alatti terület; MVFI: mikrovaskuláris Doppler áramlási képalkotás; NPV: negatív prediktív érték; PPV: pozitív prediktív érték

6.3.2 FLL-k automatizált osztályozása hepatobiliáris kontrasztanyagias MRI vizsgálatokon

A betanítást követően, a független teszt halmazon, a 2D CNN modell az FNH-kat 0,99, a HCC-ket 0,96 és a metasztázisokat 0,995 átlagos AUC-vel diagnosztizálta (**táblázat 6**). A legjobbnak bizonyult 3D modell FNH-knál 0,97, HCC-knél 0,905 és metasztázisoknál 0,955 AUC-t klasszifikációs pontosságot ért el. A 2D és 3D modellek diagnosztikus teljesítménye között nem volt szignifikáns a különbség. A hálózati élsúlyok rögzítését követően készült osztály aktivációs térképek kiemelték, hogy a bevitt képanyagokon belül melyik pixelek járultak hozzá leginkább a léziók típusának előjeleséhez, FNH-k esetében jól láthatóan a centrális heg volt az egyik legmagasabban súlyozott képterület.

táblázat 6:a mélytanuló hálók diagnosztikus pontossága.

Beviteli adatok	PPV	Érzékenység	F1 pontszám	Fajlagosság	NPV
FNH 2D	0,9091	1	0,9524	0,95	1
FNH 3D	0,9	0,9	0,9	0,95	0,95
HCC 2D	1	0,8	0,8889	1	0,9091
HCC 3D	0,875	0,7	0,7778	0,95	0,8636
SEC 2D	0,9091	1	0,9524	0,95	1
SEC 3D	0,75	0,9	0,8182	0,85	0,9444
Átlag 2D	0,9394	0,9333	0,9312	0,9667	0,9697
Átlag 3D	0,8417	0,8333	0,832	0,9167	0,9194

FNH: fokális noduláris hiperplázia, HCC: hepatocelluláris karcinóma, NPV: negatív prediktív érték, PPV: pozitív prediktív érték, SEC: metasztázis.

6.3.3 Az FLL-k képi jellemzőinek meghatározása mesterséges intelligenciával

A tanítás során a képi jellemzők prediktálásban a legjobb eredményt (AUC=0,915) az EfficientNetB0 modell érte el a 480-dik tanítási ciklusban. A legmagasabb AUC értékeket a modell a teszt halmazban a HBP kontraszt felvétel (0,99) és a vénás izo- vagy hiperintenzitás (0,98) tekintetében érte el. Az AUC alapján a legkevésbé megjósolható jellemzők a T2 hiperintenzitás (0,79), a perifériás halmozás (0,74) és a kimosódás (0,64) voltak (**táblázat 7**). Az FNH-k képi jellemzőit (centrális heg, HBP kontrasztfelvétel) a modell általában jól felismerte. A HCC-re jellegzetes korai halmozást és vénás kimosódást az esetek mintegy felében tudta a CNN modell diagnosztizálni.

táblázat 7: a mélytanuló modell pontossága a radiológiai jelek kimutatásában.

Képi jellemzők	PPV	NPV	Szenzitivitás	Specificitás	AUC
HBP kontrasztfelvétel	0,92	0,97	0,94	0,96	0,99
Vénás izo-, hiperintenzitás	0,92	0,96	0,92	0,96	0,98
Centralis heg	0,44	0,99	0,95	0,75	0,91
Tok	0,72	0,95	0,72	0,95	0,87
APHE	0,87	0,75	0,8	0,83	0,86
Centrálisan nem halmoz	0,77	0,83	0,8	0,81	0,84
Magas T1 jel	0,5	0,94	0,71	0,87	0,82
Magas T2 jel	0,78	0,79	0,6	0,9	0,79
Széli halmozás	0,51	0,93	0,87	0,68	0,74
Kimosódás	0,64	0,82	0,5	0,89	0,64
Átlag	0,71	0,89	0,78	0,86	0,84

APHE: artériás fázisban fokozott kontraszthalmozás, AUC: a ROC görbe alatti terület, HBP: hepatobiliáris fázis, NPV: negatív prediktív érték, PPV: pozitív prediktív érték

Az expert radiológus és a CNN közötti megbízhatóság vizsgálata során az átlagos κ érték 0,60 volt, ami elfogadható reprodukálhatóságot jelez. A HBP kontrasztfelvétel és a PVP izo- vagy hiperintenzitása esetén jó volt az egyezés ($> 0,8$). Még a legrosszabb előrejelzések (centrális heg, széli halmozás, tok) is mérsékelt ($> 0,4$) egyezést mutattak az expert szakorvossal. A MI modell és a humán vizsgáló közötti egyetértés bizonyos jellemzők esetén megközelítette az expert szakorvos és a rezidens közötti reprodukálhatóságot (**táblázat 8**).

táblázat 8: az MI modell és a vizsgálók közötti reprodukálhatóság.

Képi jellemzők	DL vs. Expert ¹	DL vs. Rezidens ¹	Expert vs. Rezidens ¹
HBP kontraszt felvétel	0,9	0,76	0,82
Vénás izo-, hiperintenzitás	0,88	0,73	0,77
Tok	0,67	0,51	0,76
APHE	0,62	0,59	0,82
Centrálisan nem halmoz	0,6	0,54	0,83
Magas T2 jel	0,52	0,52	0,81
Magas T1 jel	0,5	0,42	0,76
Centrális heg	0,48	0,68	0,66
Széli halmozás	0,45	0,36	0,79
Kimosódás	0,41	0,53	0,59
Átlag	0,6	0,56	0,76

¹ Cohen kappa értékek, APHE: artériás fázisban fokozott kontraszthalmozás, HBP: hepatobiliáris fázis, DL: mélytanuló hálózat

6.4 Megbeszélés III.

Az MVFI egy új Doppler áramlásmérési módszer, amely a CDI-nél alacsonyabb áramlási sebességeket képes ábrázolni, ezért alkalmas az érrajzolat részletgazdagabb megjelenítésére. Az FLL-k bizonyos típusaiban az érrajzolat eloszlása jellegzetes mintázatot követ. Ilyen mintázat a hemangiómákra típusos pontozott, vagy a szélén fátýolozott, közepén pontozott eloszlás, ami korrelál a szövettani vizsgálaton látható széli tápláló arteriolákkal és centrális alacsony áramlási sebességű vaszkuláris terekkel. Hasonlóan az FNH-kra jellegzetes kerékküllő mintázat és centrális artéria, párhuzamba állítható a kontrasztanyag ultrahanggal (CEUS) is megfigyelhető centrifugális betelődéssel, amely a tápláló artérián és a belőle sugarasan elágazó arteriolákon keresztül történik. A jellegzetes MVFI mintázatoknak a kimutatásával a B-mód UH jellemzőknél jobban leszűkíthető a differenciál-diagnózisok száma, vagy konkrét lézió típus vethető fel. Mivel a lakosság akár 15%-ában is előfordulhatnak, olyan tünetmentes FLL-k, amelyek incidentálisan kerülnek felfedezésre, az MVFI-vel szerzett információ segítséget adhat a kivizsgálási algoritmus megválasztásában, ami csökkenti a betegek terhelését és költségtakarékos is. Különösen igaz ez az FNH esetén, amely a harmadik leggyakoribb incidentálisan detektált májlézió, és kontrasztanyagos képalkotó vizsgálatokon gyakran differenciáldiagnosztikai nehézséget okoz a HCA-tól, HCC-től vagy metasztázistól történő elkülönítése.

Az MI lehetőséget nyújt a képalkotó vizsgálatok automatizált kiértékelésére, ami javíthatja a diagnosztikus pontosságot, a reprodukálhatóságot és lerövidítheti a leletezési időt, illetve jelezheti, mely betegek igényelnek sürgős ellátást. A HBP kontrasztanyag MRI vizsgálatok jelentősége elsősorban az extracelluláris kontrasztanyagokkal nem megfelelően karakterizálható vagy rosszabbul detektálható FLL-k diagnosztikájában nagy. Az FNH-k jellegzetes HBP kontrasztanyag felvétele az estek többségében lehetővé teszi megkülönböztetésüket az HCA és HCC típusú daganatoktól. A nem hepatocita eredetű metasztázisok pedig a HBP fázisban éles kontraszttal ábrázolódnak. Ez segíti a multiplex és kisméretű tumorok kimutatását is, ami nélkülözhetetlen a terápiás döntések meghozatalához. A CNN-k által lehetőség nyílik az FLL-k automatikus detektálására, képalkotó jellemzőik meghatározására és típusaik elkülönítésére. Így lerövidíthető a leletezési időt, ami hatékonyabbá teszi a betegellátás folyamatát. A CNN-ek segítik a diagnosztikus hibák elkerülését is, azáltal, hogy felismernek olyan elváltozásokat is, amelyeket a radiológus nem látott meg. Második véleményként támogathatják a radiológus döntéseit, a képalkotó jellemzők standardizált meghatározása és a legvalószínűbb differenciál diagnózis indikálása által. Ugyanezek a funkciók segítik a kezdő radiológusok tanítását, valamint egy egységes, vizsgálók és intézmények közötti eltéréseket minimalizáló, az adott betegellátási protokoll szempontjából optimalizált, leletezési algoritmus kialakítását. Az általunk fejlesztett CNN-k tanítása viszonylag kevés számú mintán történt, ami nem teszi lehetővé az általános klinikai felhasználásukat. Ugyanakkor már ezek a kis esetszámú megvalósíthatósági tanulmányok is egyértelműen jelzik, hogy a CNN-k diagnosztikus pontossága megközelítheti a képezett vizsgálókét és kiváló egyezés alakítható ki az MI modellek által és a szakképzett radiológus által meghatározott képalkotó jellemzők között.

7. Génexpressziós változások vizsgálata hepatokarcinogenezis során mikroarrayvel

7.1 Betegcsoport IV.

7.1.1 A HGF/MET útvonal által aktivált expressziós mintázatok azonosításához 139 sebészileg reszekált HCC-ből gyűjtöttünk szöveti mintát és izoláltunk mRNS-t. A betegek két fő etnikai csoportba tartoztak, a 61 ázsiai beteg esetén a leggyakoribb etiológia faktor a krónikus HBV fertőzés volt, a 78 kaukázusi leszármazású beteg esetében a krónikus HCV fertőzés és az alkoholos májbetegség voltak a legfontosabb kóroki tényezők. A betegek medián utánkövetési ideje 23,4 hónap volt; ez alatt az időszak alatt 74 beteg hunyt el.

7.1.2 49 göbös májlézióból, köztük 24 regeneratív göbből, 3 alacsony grádusú, 12 magas grádusú DN-ből és 10 korai HCC-ből, vett biopsziás mintán végeztünk génexpressziós profilozást mikroarray hibridizációval.

7.2 Módszerek IV.

7.2.1 Adatgyűjtés

A National Cancer Institute, Laboratory of Experimental Carcinogenesis-ben feldolgozott humán HCC mintákat és preneoplasztikus göbös májléziókat sebészileg reszekált, illetve explantált májából, intézetek közötti kutatási együttműködés keretében, prospektívan gyűjtöttük össze. Az esetekhez tartozó demográfia, klinikai és laboratórium adatokat a betegek elektronikus dokumentációjából kerestük vissza.

7.2.2 MET-vezérlet expressziós mintázat meghatározása primer májsejtekben

A MET működéséhez elengedhetetlen 16. exon hepatocitaspecifikus delécióját albumin-Cre transzgént hordozó egerek és floxolt Met allélt hordozó egerek keresztezésével hoztuk létre. WT és kondicionális Met KO egerekből primer májsejteket izoláltunk, majd a sejtenyészeteket 0,5, 2, 12 és 24 órán keresztül HGF-vel kezeltük. Az mRNS izolációja, cDNS-re átírása és fluoreszcens jelölése után, a génexpressziós vizsgálatokhoz a Mouse OligoLibrary Release 1 plus Extension oligonukleotid készletet tartalmazó microarrayket használtuk, amelyek összesen 19 740 egyedi gént reprezentáltak.

7.2.3 Fagyasztott humán szövetminták gyűjtése, RNS izolálás és mikroarray hibridizáció

A frissen explantált májban azonosított göböket kimetszettük és félbevágtuk. A göbök egyik féle szövettani elemzésre került, a másik felét folyékony nitrogénben lefagyasztottuk. A fagyasztott mintákból mRNS-t izoláltunk, melyet lineárisan felamplifikáltunk és fluoreszcens festékkel megjelöltünk. A jelölt mintákat 22 ezer oligonukleotid próbát tartalmazó cDNS mikroarrayre hibridizáltuk.

7.2.4 Valós idejű kvantitatív polimeráz láncreakció

Kiválasztott gének esetén a minták közötti expresszió különbségeket valós idejű PCR-rel is megerősítettük. A specifikus amplifikáció igazolására olvadáspont-analízist is végeztünk. A relatív génexpressziós szintek meghatározásához az egér $\beta 2$ -mikroglobulin, illetve humán mintákban az albumin gén expresszióját használtuk belső referenciaként.

7.2.5 Statisztikai elemzés

A normális eloszlást követő folytonos változókat átlag és SD formájában, míg a normálistól eltérő eloszlású változókat medián és IQR formátumban írtuk le. Az eloszlás normalitását a Shapiro–Wilk-próbával vizsgáltuk. A normális eloszlású változók két vagy több csoport közötti összehasonlítására Student-féle t-próbát, ANOVA, valamint post hoc Tukey-féle HSD tesztet alkalmaztunk. A kategorikus változókra kontingencia táblázatokat készítettünk és az eloszlások összehasonlítására csoportok között Khi-négyszet próbát használtunk, az OR-t 95%-os CI-vel együtt számítottuk ki. A vizsgált csoportok közötti génexpressziós különbségek kimutatására multivariáns permutációs tesztet alkalmaztunk 1000 véletlenszerű permutációval, amely empirikusan <10% hamis felfedezési arányt (FDR-t) garantált. Az egyes gének kiválasztásának kritériumai a $p < 0,001$ szignifikanciaszint, valamint legalább 1,5-szeres expresszió különbség voltak az egyváltozós t-tesztben a vizsgált kategóriák között. A humán és egér cDNA array ortológ génjeit a HomoloGene adatbázisban a LocusLink azonosító alapján határoztuk meg. Az adatokkal hierarchikus klaszterezést végeztünk, ahol a minták és gének távolságát Pearson-korrelációval határoztuk meg az eredményt pedig színskálázott hőtérképen ábrázoltuk. Az onkogén-vezérelt célgének gyakoriságát a differenciálisan expresszált gének között génkésztetdúsulás-elemzéssel (GSEA) vizsgáltuk. A humán mintákat véletlenszerűen tanító és ellenőrző halmazokra osztottuk, és az osztályozáshoz használt géneket a gépi tanulás modellek keresztvalidált felügyelt tanítása során választottuk ki. Az osztályozóban szereplő gének számát úgy optimalizáltuk, hogy a tréning halmazon a lehető legmagasabb helyes besorolási arányt érjük el. A betegek túlélését a HCC alcsoportokban log-rank tesztel és Kaplan–Meier grafikonokon hasonlítottuk össze.

7.3 Eredmények IV.

7.3.1 A HGF/MET útvonal által szabályozott génexpressziós mintázat azonosítása humán HCC-kben

A MET-célgének meghatározásához a génexpressziót összehasonlítottuk egyrészt HGF-fel kezelt és kezeletlen WT hepatociták között, másrészt a kezelt WT és Met KO hepatociták között az egymást követő időpontokban. Az elemzés 353 MET-célgént talált, amelyek mindkét összehasonlításban különbözőek voltak. A célgének funkciójának vizsgálata során azt találtuk, hogy a HGF/MET jelátvitel aktivációja migrációs és angiogén programok transzkripciós aktivációját okozza. A humán HCC-ket a MET-célgének ortológjaival végzett klaszterezés következtében két csoportra osztotta. A HGF-kezelt hepatocitákhoz hasonló expressziós profilokat mutató (MET+) alcsoportba tartozó daganatok esetén a betegek átlagos túlélési ideje szignifikánsan rövidebb volt ($35,1 \pm 7,15$ hónap), mint a többi betegé ($70,3 \pm 9,67$ hónap). Emellett a mikrovaskuláris invázió is szignifikánsan gyakoribb volt a MET+ HCC-kben ($\chi^2 = 4,01$; $p \leq 0,05$). A HGF/MET szabályozott expressziós profilokból egy 111 génből álló osztályozót tudtunk létrehozni, amit gépi tanulási algoritmusokban használva előrejelezhető volt a betegek várható prognóza.

7.3.2 A MYC szabályozott expressziós program aktivációja korai hepatokarcinogenezisben

A mikroarray adatok alapján azonosítottunk 1632 gént, amely a minták több mint 10%-ában legalább kétszeres kifejeződési különbséget mutattak a korai HCC-k, a DN-k, a regeneratív göbök és a nem involvált máj között. A klaszter elemzéssel a korai HCC-k többségét az expressziós mintázatok alapján el tudtuk különíteni a nem malignus elváltozásoktól. Az összehasonlító elemzés során 144 szignifikánsan különböző gént azonosítottunk az alacsony

grádusú DN és a korai HCC, illetve 282 gént a magas grádusú DN és a korai HCC között. 34 gén mindkét összehasonlításban szignifikáns különbséget mutatott. Az expressziós különbségek hátterében felmerült a MYC onkogén szabályozó szerepe. A GSEA alapján, mind a MYC transzfektált sejtvonalon (dúsítási pontszám=0,5, $p<0,03$), mind a transzgén egér mintákban (dúsítási pontszám=0,4, $p<0,05$) beazonosított, a MYC által pozitívan szabályozott expressziós profilok szignifikánsan gyakrabban jelentek meg korai HCC-kben mint a DN-kben. Különösen az 1q21–22 és a 8q22–24 kromoszóma régiókra lokalizált gének voltak túlexpresszáltak a HCC-kben. Megfigyeltük, hogy a MYC lebontását szabályozó COP9 szignálszóma alegység-5 (CSN5), expressziója szignifikánsan korrelált a MYC-aktivált expresszió mintázat génjeinek átlagos expressziós szintjével ($r = 0,72$; $P < 0,0001$), valamint a CSN5 elcsendesítése kis interferáló RNS-sel (siRNS) HuH-7 sejtvonalban, olyan gének expresszióját csökkentette, amelyek túlexpresszáltak voltak korai HCC-kben. Ezek az adatok a CSN5 lehetséges szabályozó szerepére utalnak a MYC vezérelt gének átíródásában.

7.4 Megbeszélés IV.

A mikroarray technológia, először tette lehetővé, a teljes transzkriptom vizsgálatát humán tumorokban. A karcinogenezis során a génexpresszióban bekövetkező változások szorosan összefüggenek a daganatok fenotípusával és meghatározzák a tumor progresszió, a disszemináció és a különböző terápiákra adott válasz mértékét. Ezért mikroarrayvel és más génexpressziót genom szinten vizsgáló technikával azonosíthatók azok a génexpressziós profilok, amelyek szoros összefüggést mutatnak a daganatok egyes biológiai tulajdonságaival, és ezek alapján megbecsülhető a prognózis, hatékonyabb terápia választható, illetve monitorozható a kezelés hatékonysága. A terápiás döntések meghozatalát még inkább elősegíti, ha azonosítani tudjuk a daganat fenotípusa mögött meghúzódó genetikai, epigenetikai és jelátviteli útvonalakat érintő elváltozásokat, amelyek alapján közvetlenül az onkogén mechanizmust célzó, személyre szabott terápia kezdhető. A komparatív genomikai elemzés a fajok között funkcionálisan konzervált ortológok azonosítását követően, lehetővé teszi, hogy az állatmodellekben meghatározott jelátviteli-útvonalak aktivációjához kötődő, vagy specifikus genetikai háttér által vezérelt génexpressziós mintázatokat a humán tumorok osztályozására is felhasználhassunk. A genomikai biomarkerek elősegítik azon betegcsoportok kiválasztását, akiknél a HGF/MET gátló kezelés hatékonysága a legjobb lehet. A MYC aktiváció hatását blokkoló kezelések elsősorban nem a MYC transzkripció faktort, hanem annak a regulátorait, például ciklin-denspendens-kináz-9-t célozzák. A CSN5 inhibitorok jelenleg még kifejlesztés alatt állnak és potenciális terápiás hatásukat eddig csak xenograftokon sikerült igazolni. Ezeknek a célzott terápiáknak a hatékonysága a jövőben monitorozható lehet az expressziós profilok alapján beazonosított biomarkerekkel.

8. Új tudományos megállapítások

8.1 A májfibrózis nem invazív kimutatása képpalkotó vizsgálatokkal

8.1.1 Az SWE módszerrel végzett LSM technikai sikeraránya magas, Az SWE-vel mért LSM értékek vizsgálók közötti megbízhatósága kiváló, Az SWE-vel mért LSM értékek szignifikánsan különböznek az májfibrózis stádiumai között, és az SWE módszer alkalmas a májfibrózis stádiumának meghatározására krónikus HCV hepatitisben.

8.1.2 A DAA kezelés hatására SVR-be került krónikus HCV betegekben az SWE-vel mért LSM már EOT 48. héten szignifikánsan csökken, mely egybevág a FIB-4 által becsült fibrózis javulásával. Az SWE az SVR-ben lévő betegek nyomon követése során segíti a VNT szempontjából magas kockázatú betegek kiszűrését.

8.1.3 A CT vizsgálatok radiomikái paramétereiből létrehozott gépi tanulási modellek alkalmasak korai és előrehaladott a májfibrózis elkülönítésére PVP felvételeken.

8.2. A zsírmáj kvantitatív képalkotó diagnosztikája

8.2.1 A TAI és TSI mérések szignifikáns pozitív korrelációt mutatnak az MRI-PDFF-fel. A QUS biomarkerekkel objektíven és nagyon jó pontossággal lehet kimutatni a szteatózis korai stádiumait.

8.2.2 A QUS paraméterekből nem-lineáris legkisebb négyzetek illesztéssel létrehozott UEFF modell az MRI-PDFF méréshez hasonló pontossággal tudja diagnosztizálni az enyhe és közepes fokú szteatózist.

8.2.3 A MI támogatott HRI mérés jobb diagnosztikus pontossággal mutatja ki a kisfokú szteatózist, ugyanakkor a hagyományos jelek megbízhatóbbak a közepes és előrehaladott szteatózis megkülönböztetésére.

8.2.4 CS-MRI vizsgálatokból készült MRI-PDFF térképek minimális hibával ábrázolják a víz/zsír protonok valódi arányát. A komplex és magnitúdó rekonstrukciók között jó a korreláció és a reprodukálhatóság. Betegvizsgálatok során a QPBO algoritmus használata esetén várható a legkevesebb műtermék.

8.3 Gócos májelváltozások osztályozása és karakterizálása

8.3.1 Az MVFI mintázatok vizsgálók között reprodukálhatósága jelentős. Az MVFI áramlási mintázatok alapján az FNH a B-mód UH jeleket meghaladó pontossággal különíthető el az egyéb típusú FLL-ktől, és pontossága tovább növekszik a ≥ 3 cm-nél elváltozások esetén.

8.3.2 Az 2D és 3D CNN modellek egyaránt kiváló hatékonysággal képesek a FLL-ek csoportosításra HBP kontrasztanyaggal készült MRI vizsgálatokon.

8.3.3 A CNN a különböző típusú léziókban eltérő pontossággal képes a HBP kontrasztanyag MRI-n a radiológiai jeleket azonosítani. A legmegbízhatóbban diagnosztizálható jelek a HBP kontrasztanyag felvétel, a vénás izo- vagy hiperintenzitás, és a centrális heg. A képalkotó jelek felismerésében a MI és a szakorvos közötti egyezés megközelíti a radiológusok közötti reprodukálhatóságot.

8.4 Génexpressziós profilok vizsgálata hepatokarcinogenezisben,

8.4.1 A HGF/MET útvonal aktivációja során kialakuló globális expressziós különbségek meghatározzák a Met KO és WT hepatociták között megfigyelhető fenotípusbeli különbségeket. Összehasonlító genomikai elemzés alapján a humán HCC-kben a MET-aktivált expressziós mintázat rossz prognózissal társul.

8.4.2 A génexpressziós profilok alapján a korai HCC megkülönböztethető a DN-ktől és a regeneratív göböktől. A korai HCC-k expressziós profilján belül megjelenik a MYC onkogén szabályozott mintázat, ami a MYC malignus transzformációban betöltött központi szerepére utalhat.

9. Az értekezés alapjául szolgáló közlemények

1. Kaposi PN, Unger Z, Fejér B, Kucsá A, Tóth A, Folhoffer A, Szalay F, Bérczi V. Interobserver agreement and diagnostic accuracy of shearwave elastography for the staging of hepatitis C virus-associated liver fibrosis. J Clin Ultrasound. 2020 Feb;48(2):67-74. doi: 10.1002/jcu.22771. Epub 2019 Aug 29. PMID: 31463955. Q4; IF=0,91, Hivatkozás: 12/7
2. Folhoffer Anikó, Rónaszéki Aladár D., Budai Bettina K., Borsos Petra, Orbán Vince, Győri Gabriella, Szalay Ferenc, Kaposi Pál N. Follow-Up of Liver Stiffness with Shear Wave Elastography in Chronic Hepatitis C Patients in Sustained Virological Response Augments Clinical Risk Assessment. Processes 9 : 5 Paper: 753, 13 p. (2021). <https://doi.org/10.3390/pr9050753>, Q2, IF=3,352, Hivatkozás: 2/0
3. Budai BK, Tóth A, Borsos P, Frank VG, Shariati S, Fejér B, Folhoffer A, Szalay F, Bérczi V, Kaposi PN. Three-dimensional CT texture analysis of anatomic liver segments can differentiate between low-grade and high-grade fibrosis. BMC Med Imaging. 2020 Sep 21;20(1):108. doi: 10.1186/s12880-020-00508-w. PMID: 32957949; PMCID: PMC7507285. Q3, IF=1,93, Hivatkozás: 33/31
4. Budai BK, Tánczik Zs, Körmendy B, Zsombor Z, Palotás L, Stollmayer R, Rónaszéki AD, Maurovich Horvat P, Kaposi Novák P. Radiomikai elemzés – ami igazán lényeges, az a szemnek sokszor láthatatlan: Metodikai közlemény. MAGYAR RADIOLÓGIA ONLINE 13: 2 Paper: 3, 16 p. (2022)
5. Rónaszéki AD, Budai BK, Csongrády B, Stollmayer R, Hagymási K, Werling K, Fodor T, Folhoffer A, Kalina I, Győri G, Maurovich-Horvat P, Kaposi PN. Tissue attenuation imaging and tissue scatter imaging for quantitative ultrasound evaluation of hepatic steatosis. Medicine (Baltimore). 2022 Aug 19;101(33):e29708. doi: 10.1097/MD.00000000000029708. PMID: 35984128; PMCID: PMC9387959. Q3, IF=1,6, Hivatkozás: 25/21
6. Kaposi PN, Zsombor Z, Rónaszéki AD, Budai BK, Csongrády B, Stollmayer R, Kalina I, Győri G, Bérczi V, Werling K, Maurovich-Horvat P, Folhoffer A, Hagymási K. The Calculation and Evaluation of an Ultrasound-Estimated Fat Fraction in Non-Alcoholic Fatty Liver Disease and Metabolic-Associated Fatty Liver Disease. Diagnostics (Basel). 2023 Oct 31;13(21):3353. doi: 10.3390/diagnostics13213353. PMID: 37958249; PMCID: PMC10648816. Q2, IF=3,0, Hivatkozás: 10/8
7. Zsombor Z, Rónaszéki AD, Csongrády B, Stollmayer R, Budai BK, Folhoffer A, Kalina I, Győri G, Bérczi V, Maurovich-Horvat P, Hagymási K, Kaposi PN.

- Evaluation of Artificial Intelligence-Calculated Hepatorenal Index for Diagnosing Mild and Moderate Hepatic Steatosis in Non-Alcoholic Fatty Liver Disease. *Medicina* (Kaunas). 2023 Feb 27;59(3):469. doi: 10.3390/medicina59030469. PMID: 36984470; PMCID: PMC10058464. Q2, IF=2,4, Hivatkozás: 14/13
8. Zsombor Z, Zsély B, Rónaszéki AD, Stollmayer R, Budai BK, Palotás L, Bérczi V, Kalina I, Maurovich Horvat P, Kaposi PN. Comparison of Vendor-Independent Software Tools for Liver Proton Density Fat Fraction Estimation at 1.5 T. *Diagnostics* (Basel). 2024 May 30;14(11):1138. doi: 10.3390/diagnostics14111138. PMID: 38893664; PMCID: PMC11171873. Q2, IF=3,3, Hivatkozás: 2/1
 9. Rónaszéki AD, Dudás I, Zsély B, Budai BK, Stollmayer R, Hahn O, Csongrády B, Park BS, Maurovich-Horvat P, Győri G, Kaposi PN. Microvascular flow imaging to differentiate focal hepatic lesions: the spoke-wheel pattern as a specific sign of focal nodular hyperplasia. *Ultrasonography*. 2023 Jan;42(1):172-181. doi: 10.14366/usg.22028. Epub 2022 Jul 9. PMID: 36420572; PMCID: PMC9816699. Q2, IF=2,4, Hivatkozás: 13/12
 10. Zsély B, Rónaszéki AD, Himsel M, Zsombor Z, Győri G, Folhoffer A, Mühl D, Bérczi V, Park BS, Pekli D, Hahn O, Kiss A, Maurovich-Horvat P, Kaposi PN. Assessment of the prevalence and consistency of microvascular flow imaging patterns in focal nodular hyperplasia. *Pathol Oncol Res*. 2026 Jan 23;32:1612253. doi: 10.3389/pore.2026.1612253. PMID: 41660154; PMCID: PMC12875999. Q2, IF=2.3, Hivatkozás: 0/0.
 11. Stollmayer R, Budai BK, Tóth A, Kalina I, Hartmann E, Szoldán P, Bérczi V, Maurovich-Horvat P, Kaposi PN. Diagnosis of focal liver lesions with deep learning-based multi-channel analysis of hepatocyte-specific contrast-enhanced magnetic resonance imaging. *World J Gastroenterol*. 2021 Sep 21;27(35):5978-5988. doi: 10.3748/wjg.v27.i35.5978. PMID: 34629814; PMCID: PMC8475009. Q1, IF=5,374, Hivatkozás: 33/31
 12. Stollmayer R, Budai BK, Rónaszéki A, Zsombor Z, Kalina I, Hartmann E, Tóth G, Szoldán P, Bérczi V, Maurovich-Horvat P, Kaposi PN. Focal Liver Lesion MRI Feature Identification Using Efficientnet and MONAI: A Feasibility Study. *Cells*. 2022 May 5;11(9):1558. doi: 10.3390/cells11091558. PMID: 35563862; PMCID: PMC9104155. Q1, IF=6,0, Hivatkozás: 9/9
 13. Kaposi-Novak P, Lee JS, Gómez-Quiroz L, Coulouarn C, Factor VM, Thorgeirsson SS. Met-regulated expression signature defines a subset of human hepatocellular carcinomas with poor prognosis and aggressive phenotype. *J Clin Invest*. 2006 Jun;116(6):1582-95. doi: 10.1172/JCI27236. Epub 2006 May 18. PMID: 16710476; PMCID: PMC1462944. D1, IF = 15,754, Hivatkozás: 373/337
 14. Kaposi-Novak P, Libbrecht L, Woo HG, Lee YH, Sears NC, Coulouarn C, Conner EA, Factor VM, Roskams T, Thorgeirsson SS. Central role of c-Myc during malignant conversion in human hepatocarcinogenesis. *Cancer Res*. 2009 Apr 1;69(7):2775-82. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-08-3357. Epub 2009 Mar 10. Erratum in: *Cancer Res*.

2009 Apr 15;69(8):3721. Coulouarn, Cedric [added]. PMID: 19276364; PMCID: PMC2680077.D1 IF=7,543, Hivatkozás: 180/161

15. Kaposi-Novák P. Az emberi májrák komparatív genomikai osztályozása [Comparative genomic classification of human hepatocellular carcinoma]. Magy Onkol. 2009 Mar;53(1):61-7. Hungarian. doi: 10.1556/MOnkol.53.2009.1.9. PMID: 19318328. Q3, IF = 0, Hivatkozás: 5/5

A Disszertáció alapjául szolgáló folyóiratcikkek kumulatív impakt faktora (Σ IF): 55,863

A Disszertációban szereplő közleményekre vonatkozó független hivatkozások száma: 636

Tudományos folyóiratcikkek száma: 58

Tudományos folyóiratcikkek kumulatív impakt faktora (Σ IF): 173.803

Összes hivatkozások száma: 2637

Független hivatkozások száma: 2277

Hirsch index: 17

10. Köszönetnyilvánítás

Elsőként szeretném hálámat és köszönetemet kifejezni tanárainknak, témavezetőimnek és mentoraimnak, akik formálták tudományos gondolkodásomat, irányt mutattak, biztattak és kitartásra ösztönöztek a tudományos munka nehézségei között is. Munkásságuk, emberségük mindvégig például szolgált és megerősített abban, hogy helyes irányt választottam, amikor a klinikai kutatás mellett köteleztem el magam. Külön szeretném megemlíteni gimnáziumi tanáromat Urbanek Rudolf Sch.P., aki megkedveltette velem a biológiát és a természettudományos gondolkodást; Professzor Schaff Zsuzsa akadémikus asszonyt, akinek intézetében, mint tudományos diákköri hallgató kezdtem megismerkedni a tudományos munka alapjaival, és akinek a májbetegségek kutatásában végzett iskolateremtő munkássága nagy hatással volt a pályaválasztásomra; doktori témavezetőmet Professzor Kiss Andrást, akitől megtanultam a májbetegségek vizsgálatának metodikáját és támogatott abban, hogy külföldön is tapasztalatokat szerezzek; valamint Dr. Snorri S. Thorgeirssont a National Cancer Institute, Intramural Research Program igazgatóját, az Laboratory of Experimental Carcinogenesis vezetőjét, mivel az általa vezetett világszínvonalú kutatási programban együtt dolgozhattam a téma nemzetközileg elismert szakembereivel, a legkorszerűbb kutatási módszerekkel ismerkedhettem meg, és betekintheztem a nemzetközi tudományos közösség munkájába.

Köszönetemet fejezem ki, munkahelyi vezetőimnek és munkatársaimnak, akiktől sok útmutatást és tanácsot kaptam, és akik mindvégig hittek munkám értékében. Kiemelem Professzor Hüttl Kálmánt a városmajori Szív- és Érgyógyászati Klinikáról, akinél bevezetést kaptam a képalkotó diagnosztika és intervenció alapjaiba; Professzor Bérczi Viktort, akinek az irányítása alatt lettem a képalkotó diagnosztikában jártas szakember; Professzor Maurovich-Horvat Pált, aki lehetőséget adott, hogy az egyre bővülő klinikai és betegellátási kötelezettségek mellett is foglalkozhassak tudományos munkával; Dr. Győri Gabriellát és Dr. Kalina Ildikót akik szakmai iránymutatása mellett az UH és MRI részlegeken végezhettem a kutatómunkához szükséges betegvizsgálatokat. Különösen hálás vagyok, hogy gasztroenterológia és hepatológia területén dolgozó klinikus kollégák között, olyan kiváló szakemberekkel dolgozhatok együtt, és köztük különösen hálásan gondolok Dr. Folhoffer Anikóra és Professzor Hagymási Krisztinára, akik örömmel fogadják az újszerű képalkotó eljárásokat és képesek az képalkotó biomarkereket a klinikai protokollokba átültetni úgy, hogy azok közvetlenül a betegek hasznát szolgálják. Köszönetemet fejezem ki minden szonográfus, radiográfus, képalkotó analitikus és

adminisztrátor kollégának, akik áldozatos munkájukkal hozzájárultak, hogy a betegeket mindig zökkenőmentesen a szakmai protokoll betartásával tudjuk vizsgálni. Köszönöm a Semmelweis Egyetem betegeinek, az orvosi és tudományos munkánkba vetett bizalmát, hogy megértették kutatásaink közvetlenül az ő ellátásuk jobbítását célozzák, és ezért időt szántak rá és vállalták, hogy az új képalkotó módszerek validációjához szükséges adatokat vizsgálataik során összegyűjtsük.

Hálás vagyok, hogy a Semmelweis Egyetem hallgatói, tudományos diákkörösei és Ph.D. hallgatóim között, olyan tehetséges, fiatal szakemberekkel dolgozhatok együtt, akiknek tehetsége, szorgalma, kreativitása és kitartó munkája állandó inspirációt nyújt az új kutatási projektek kidolgozásának és megvalósításának.

Köszönettel tartozom azoknak a képalkotó berendezéseket tervező, gyártó és forgalmazó cégnek és szakembereknek, akiknek munkája lehetővé teszi, hogy a legkorszerűbb képalkotó eljárásokat alkalmazzassuk arra, hogy betegeink terhelését minimalizáló nem invazív mérésekkel segítsük elő a májbetegségek gyors, pontos és megbízható diagnosztikáját. Külön ki kell emelnem Giay László ügyvezető igazgató és a Sonarmed Kft., valamint a Samsung Medison Ltd. Co. által nyújtott segítséget, akik biztosították, hogy készülékeikkel a világ vezető orvosi centrumaival egyidőben tudjuk tesztelni és bevezetni élvonalbeli ultrahangdiagnosztikai módszereket és alkalmazásokat.

Végül és nem utolsó sorban hálámat és köszönetemet fejezem ki családtagjaimnak, közöttük is elsőként édesapámnak és édesanyámnak, akik gondoskodó szeretetükkel támogatták tanulmányaimat és biztos támaszt nyújtottak a pályám során felmerülő nehézségek megoldásában is.

